第 38 卷第 2 期 2018 年 1 月
生 态 学 报
ACTA ECOLOGICA SINICA
Vol.38,No.2 Jan.,2018

DOI: 10.5846/stxb201608231718

聂二旗,张心昱,郑国砥,杨洋,王辉民,陈伏生,孙晓敏.氮磷添加对杉木林土壤碳氮矿化速率及酶动力学特征的影响.生态学报,2018,38(2):615-623.

Nie E Q, Zhang X Y, Zheng G D, Yang Y, Wang H M, Chen F S, Sun X M.Effects of nitrogen and phosphorus additions on soil organic carbon and nitrogen mineralization and hydrolase kinetics in Chinese fir plantations.Acta Ecologica Sinica,2018,38(2):615-623.

氮磷添加对杉木林土壤碳氮矿化速率及酶动力学特征的影响

聂二旗[1,2,3],张心昱[1,3,*],郑国砥[2,3],杨 洋[1,3],王辉民[1,3],陈伏生[4],孙晓敏[1,3]

1 中国科学院地理科学与资源研究所生态系统网络观测与模拟重点实验室,北京 100101
2 中国科学院地理科学与资源研究所环境修复中心,北京 100101
3 中国科学院大学,北京 100049
4 江西农业大学江西省竹子种质资源与利用重点实验室,南昌 330045

摘要:以江西杉木林红壤为研究对象,开展野外长期氮(N)、磷(P)添加控制试验,设置对照(CK)、N(50kg N hm^{-2} a^{-1})、P(50kg P hm^{-2} a^{-1})、NP(50kg N hm^{-2} a^{-1}+50kg P hm^{-2} a^{-1})处理,分析 N、P 添加对土壤碳矿化速率(C_{min})、氮矿化速率(N_{min})和相关的β-1,4-葡萄糖苷酶(βG)和β-1,4-N-乙酰葡糖氨糖苷酶(NAG)动力学参数的影响。结果表明:(1)N 添加明显降低了 C_{min} 和 N_{min},比 CK 分别减少了 25%和 18%;N 添加减小了 NAG 的潜在最大酶活性(V_{max})、半饱和常数(K_m) 、催化效率(V_{max}/K_m),但差异不显著(P>0.05);N 添加显著增加了 βG 的 V_{max}、K_m,但对 V_{max}/K_m 有抑制作用。(2)P 输入(P、NP)较 CK 使 NAG 的 V_{max}、K_m 减小 26%—60%;NP 同时添加明显提高 βG 和 NAG 的 V_{max}/K_m(P<0.05),但 P 输入(P、NP)对 C_{min} 和 N_{min} 影响不显著(P>0.05)。(3)C_{min} 与土壤溶解性有机碳正相关,N_{min} 与 pH 显著正相关,与土壤 NH_4^+-N、NO_3^--N 显著负相关;βG 和 NAG 的 V_{max}/K_m 均与 NH_4^+-N、NO_3^--N 负相关(P<0.05),K_m 均与 NH_4^+-N、NO_3^--N 正相关(P<0.05)。βG 的 V_{max} 与 NH_4^+-N、NO_3^--N 正相关(P<0.05),NAG 的 V_{max} 与有机碳、全氮、全磷、有效磷负相关(P<0.05)。研究结果表明,在亚热带杉木人工林中,N 添加降低土壤 pH,增加土壤有效氮含量,抑制 βG 和 NAG 的 V_{max}/K_m,对土壤 C_{min} 和 N_{min} 产生抑制作用;而 NP 添加增加土壤有效磷含量,增加土壤 βG 和 NAG 的 V_{max}/K_m。

关键词:氮磷添加;碳氮矿化;酶动力学;水解酶; 亚热带红壤

Effects of nitrogen and phosphorus additions on soil organic carbon and nitrogen mineralization and hydrolase kinetics in Chinese fir plantations

NIE Erqi[1,2,3], ZHANG Xinyu[1,3,*], ZHENG Guodi[2,3], YANG Yang[1,3], WANG Huimin[1,3], CHEN Fusheng[4], SUN Xiaomin[1,3]

1 *Key Laboratory of Ecosystem Network Observation and Modeling, Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100101, *China*
2 *Center for Environmental Remediation, Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100101, *China*
3 *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100049, *China*
4 *Jiangxi Provincial Key Laboratory for Bamboo Germplasm Resources and Utilization, Jiangxi Agricultural University, Nanchang* 330045, *China*

Abstract: A long-term field experiment of nitrogen (N) and phosphorus (P) additions was established in Chinese fir

基金项目:国家自然科学基金项目(41571251,41571130043); 中科院技术创新项目(201604)

收稿日期:2016-08-23; **网络出版日期:**2017-09-14

* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: zhangxy@ igsnrr.ac.cn

plantations in subtropical China. Four treatments, i.e. control (CK), N (50kg N hm^{-2} a^{-1}), P (50kg P hm^{-2} a^{-1}), and NP (50kg N hm^{-2} a^{-1}+ 50kg P hm^{-2} a^{-1}), were selected in this study. We studied the effects of N and P additions on the soil mineralization rate of carbon (C_{min}) and nitrogen (N_{min}) and the kinetics of β-glucosidase (βG) and N-acetyl-glucosaminidase(NAG). The results showed that (1) N additions had negative effects on C_{min} and N_{min}, which were lower by 25% and 18%, respectively, compared to CK. (2) P (P, NP) additions decreased the V_{max} and K_m of NAG by 26%—60% compared to CK, whereas NP combined additions greatly enhanced the catalytic efficiency (V_{max}/K_m) of βG and NAG ($P<0.05$). (3) C_{min} was positively correlated with dissolved organic carbon (DOC) contents, whereas N_{min} was positively correlated with pH and negatively correlated with NH_4^+-N and NO_3^--N contents. The catalytic efficiencies of βG and NAG were negatively correlated with NH_4^+-N and NO_3^--N contents ($P<0.05$). The K_m of βG and NAG was positively correlated with NH_4^+-N and NO_3^--N ($P<0.05$), The V_{max} of βG was positively correlated with NH_4^+-N and NO_3^--N ($P<0.05$), and the V_{max} of NAG was negatively correlated with soil organic carbon, total nitrogen, total phosphorus, and available contents ($P<$ 0.05). Our results suggest that N additions had negative effects on C_{min} and N_{min} by decreasing soil pH, increasing soil available N contents, and inhibiting the V_{max}/K_m of βG and NAG, whereas NP additions increased soil available P and the V_{max}/K_m of βG and NAG in southern subtropical Chinese fir plantations.

Key Words: nitrogen and phosphorus additions; soil carbon and nitrogen mineralization; enzyme kinetics; Hydrolase; subtropical red soil

在亚热带森林生态系统中,氮(N)、磷(P)有效性限制着森林初级生产力和生态系统稳定性[1]。然而,最近半个世纪由于人类活动等因素的影响,大气 N 沉降逐渐增加,导致亚热带土壤中 N 素有效性增加,N/P 比失衡,P 素相对更加缺乏[2]。养分有效性的增加会影响微生物对养分的需求,改变微生物对有机质的分解,影响土壤中的碳储存[3]。土壤 C、N 矿化将土壤中有机质分解成 CO_2 和无机氮,并且对森林生态系统 CO_2 排放和 N 养分供应中起着重要的作用[4]。尽管 N 添加对于 C、N 矿化影响的研究较多[5-6],而结论还不一致,有促进[5,7],抑制[5,8],无影响[9]。P 素作为亚热带森林生态系统主要的限制因子,在 C、N 循环的过程中起着重要的调控作用[10],而目前关于外源 P 素输入对 C、N 矿化的影响还鲜见报道[5]。

土壤微生物是有机质中 C、N 矿化的主要驱动者[11],能够产生胞外酶催化土壤中有机质的分解,其水解酶活性能够反应微生物对于能量和养分的需求[12-13]。其中,β-1,4-葡萄糖苷酶(βG)能够分解纤维素二糖为葡萄糖,是表征土壤碳矿化的重要微生物指标。β-1,4-N-乙酰葡糖氨糖苷酶(NAG)能够降解几丁质和肽聚糖,将壳二糖水解为氨基葡萄糖,是表征土壤碳、氮矿化的重要微生物指标[14]。N、P 添加通过调节微生物的底物有效性,进而影响微生物分泌酶的活性,目前研究发现 N、P 添加对土壤 βG、NAG 潜在最大酶活性(V_{max})的影响有促进、抑制、无影响[15-16],但潜在最大酶活性是饱和底物浓度下酶活性[17],未反映土壤中底物浓度对酶活性的影响。酶动力学特征一般遵循米氏方程,可以反映不同底物浓度下的酶活性,完整的描述酶的催化进程[18]。米氏方程中的半饱和常数(K_m)是反应速率为酶最大反应速率一半时的底物浓度,与酶的本质属性有关,是表征酶与底物亲和力的常数,其值越小,酶与底物的亲和力越强,即酶-底物复合体的形成能力越强[19],酶动力学参数 V_{max}/K_m 可反映酶的催化效率[18]。所以开展 N、P 添加对土壤 βG、NAG 的动力学参数的影响具有重要的意义。

本文选择亚热带杉木人工林,开展野外长期 N、P 添加控制试验,分析 N、P 添加对杉木林土壤 C、N 矿化、βG 和 NAG 动力学特征参数的影响,并分析土壤养分与土壤 C、N 矿化速率、酶动力学特征参数的关系,以期为未来氮沉降增加背景下亚热带森林土壤 C、N 矿化研究提供数据依据。

1 研究区域概况

1.1 研究区概述

试验样地位于江西省泰和县中国科学院千烟洲石溪林场(26°44′52″N,115°04′13″E),该区地处亚热带季

风气候区,雨量充沛,四季分明,海拔 102m,年平均气温 17.9℃,年平均无霜期 280d,年平均降雨量 1471mm,是典型的红壤丘陵地貌,成土母质多为红色砂岩、砂砾岩或泥岩以及河流冲积物,地处中亚热带常绿阔叶林区,由于原有植被被破坏,现多为人工林,森林覆盖近 70%,主要树种为 1985 年前后种植的马尾松(*Pinus massoniana*)、湿地松(*Pinus elliottii Engelem*)和杉木(*Cunninghamia lanceolate*)[20-21]。

1.2　试验设计

杉木人工林 N、P 添加控制试验共 4 个处理,对照(CK)、N(50 kg N hm^{-2} a^{-1})、P(50 kg P hm^{-2} a^{-1})、NP(50 kg N hm^{-2} a^{-1}+50 kg P hm^{-2} a^{-1})氮肥为 NH_4NO_3,磷肥为 NaH_2PO_4。每个处理 5 次重复(n=5),各小区面积 400m^2(20m×20m),共 20 个小区,按随机区组设计小区间隔>10 m,各小区随机排列,其中每个小区中划分 4 个亚小区,允许土壤破坏性采样的面积为 10m×10m,其他区域为永久观测区。自 2012 年开始施肥,每年 4 次,分别为 3、6、9 和 12 月,其中生长季 6 月和 9 月施肥量均为全年的 30%,非生长季 3 月和 12 月施肥量均为全年的 20%。本研究选择 2014 年 11 月采样,在每个允许土壤破坏性采样的亚小区中随机选取 5 点,除去地表凋落物层后,用直径 2cm 的土钻采集 0—10cm 土壤样品,过 2mm 筛,挑除根系后,自封袋密封保存,冷藏箱运回实验室,在 4℃冰箱冷藏备用。

1.3　测定项目与方法

1.3.1　土壤碳、氮矿化速率

采用室内需氧连续培养法[22],测定有机碳、氮矿化速率。培养前根据测定的土壤含水量,经过含水率公式换算后,再取相当于 40g 干土重的新鲜土样于 150mL 塑料瓶中,瓶盖上有 3 个直径约为 2mm 的透气小孔。将样品在 25℃恒温培养箱中培养,每天进行称重补充水分,保持土壤含水量不变。在培养的第 14 天,进行土壤碳、氮矿化速率的测定。

采用自主研发装置测定碳矿化速率,该装置主要由 Li-COR(Li-7000) CO_2红外浓度分析仪、数据采集器、低温循环仪、恒温水浴锅和电磁阀等组成。试验测定中系统可根据实验需求调节装置内起始 CO_2浓度、测试时间并能自动转换测定样品[23],土壤碳矿化速率计算公式如下:

$$C_{min} = \frac{C \times V \times \alpha \times \beta}{m}$$

式中:C_{min}为土壤碳矿化速率(μg C g^{-1} d^{-1});C 为测试时间内 CO_2浓度变化的直线斜率;V 为包括培养瓶和管线等所有气体体积;m 为培养瓶内土壤转化为干土质量;α 为 CO_2气体体积转化为质量的系数;β 为时间(s)转化为天数的系数。

称取培养前后 1g 土样,测定土壤铵态氮、硝态氮含量,进行氮矿化速率的计算[24]

$$R_{铵} = (N_{B铵} - N_{A铵})/d$$

$$R_{硝} = (N_{B硝} - N_{A硝})/d$$

$$N_{min} = (N_{B铵} + N_{B硝} - N_{A铵} - N_{A硝})/d$$

式中:$N_{B铵}$为培养后铵态氮量;$N_{B硝}$为培养后硝态氮量;$N_{A铵}$为培养前铵态氮量;$N_{A硝}$为培养前硝态氮量;N_{min}为土壤净氮矿化速率;$R_{铵}$为土壤氨化速率;$R_{硝}$为土壤硝化速率;d 为培养时间。

1.3.2　酶反应动力学参数

土壤 βG 和 NAG 活性分析采用微孔板荧光法(Saiya-Cork, 2002),分别利用 4-甲基伞形酮酰-β-D-吡喃葡萄糖苷(4-MUB-β-D-glucopyranoside)和 4-甲基伞形酮-2-乙酰氨基-2-脱氧-β-D-吡喃葡萄糖苷(4-MUB-N-acetyl-b-D-glucopyranoside)做 βG 和 NAG 的底物,应用多功能酶标仪(SynergyH4, BioTek)在 365nm 荧光处激发,450nm 处进行荧光检测。βG 和 NAG 底物均设置 8 个浓度梯度(5、10、20、30、40、60、100、200μmol/L),并设置 8 个重复,避光条件下,恒温培养箱中培养 4h 后进行测定。

将测定的酶活性和底物浓度利用 SigmaPlot10 软件进行米氏方程曲线拟合,求出最大酶促反应速率(V_{max})和半饱和常数(K_m):

$$V = V_{max}[S] / (K_m + [S])$$

式中,V 为酶促反应速率,V_{max} 为最大酶促反应速率,S 为底物浓度,K_m 为半饱和常数,即酶促反应速率达到 1/2V_{max} 时的底物浓度,可用来表示酶与底物的结合程度。

1.3.3 土壤理化性质

土壤 pH 值(土水比 1:2.5)用 pH 计测定,烘干法测定土壤含水率(105℃、24h),总有机碳(SOC)和全氮(TN)采用德国 Elementar 元素分析仪(Vario Max CN)测定。全磷(TP)采用 $HClO_4$-H_2SO_4 消煮-钼锑抗比色法,连续流动分析仪(Auto Analyzer 3,Bran + Luebbe)测定。铵态氮(NH_4^+-N)和硝态氮(NO_3^--N)采用 1mol L^{-1} KCL 作为浸提液(土液比 1:10)180—200 转的振荡器上振荡 2h,静置后采用连续流动分析仪测定,有效磷(aP)采用 0.03 mol/L NH_4F—0.025 mol L^{-1} HCL 混合液为浸提液(土液比 1:10)在 180—200 转的振荡器上振荡 5min,用无磷滤纸过滤,静置后用连续流动分析仪测定。可溶性有机碳(DOC)采用超纯水浸提液(土水比 1:5),总有机碳分析仪测定(Elementar, liquiTOC Ⅱ,Germany)[25]。

1.4 数据分析

采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)和 Duncan 多重比较对各指标进行显著性检验,显著性水平 $P<0.05$;采用主成分分析(PCA)方法评价不同处理对土壤性质、C_{min} 和 N_{min}、βG 和 NAG 动力学参数的影响;利用 Pearson 检测 C_{min}、N_{min} 和 βG 和 NAG 动力学参数及土壤环境因子之间的相关性。用 SPSS 19.0 进行统计分析,Sigma Plot 10.0 制图。

2 结果与分析

2.1 氮磷添加对土壤理化性质的影响

N 添加较 CK 使土壤中 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 含量分别增加了 60%、251% ($P<0.05$);P、NP 添加较 CK 使土壤中的 TP 和 aP 含量分别增加了 35%—53%、215%—241%;($P<0.05$);与 CK 相比,N 添加明显降低土壤 pH($P<0.05$),而 P 添加有增加土壤 pH 趋势。与 CK 相比,N、NP 添加均增加了 SOC 含量(表 1)。

表 1 氮、磷添加对土壤理化性质影响

Table 1 The effects of nitrogen and phosphorus additions on soil physical and chemical properties

处理 Treatment	pH (H_2O)	有机碳 SOC/(g/kg)	全氮 TN/(g/kg)	全磷 TP/(g/kg)	可溶性碳 DOC/(mg/kg)	铵态氮 NH_4^+-N/(mg/kg)	硝态氮 NO_3^--N/(mg/kg)	有效磷 aP/(mg/kg)
CK	4.8 (0.06) b	18.5(0.1) b	1.2(0.06) a	0.17 (0.06) b	22.9(1.5)a	11.0(0.2)b	1.9(0.3) b	4.9(0.7) b
N	4.5 (0.05) c	20.9(0.3) a	1.3(0.01) a	0.16(0.08) b	21.1(0.8)a	17.6(2.2)a	6.9(0.8) a	4.7(0.5) b
P	5.0 (0.09) a	19.2(0.0) b	1.2(0.02) a	0.23(0.09) a	21.7(2.4)a	12.2(0.5) b	0.8(0.0) b	16.8(3.4) a
NP	4.6 (0.05) bc	20.8(0.2) a	1.3(0.05) a	0.26(0.30) a	24.1(1.3)a	12.1(0.9) b	0.8(0.1) b	15.5(2.5) a

每列不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$,$n=5$),数据表示平均值(标准误差);N (50kg N hm^{-2} a^{-1}), P (50kg P hm^{-2} a^{-1}), NP (50kg N hm^{-2} a^{-1}+ 50kg P hm^{-2} a^{-1})

2.2 氮磷添加对土壤碳氮矿化速率的影响

N 比 CK 的 C_{min} 低 25%($P<0.05$),P、NP 对 C_{min} 的影响较 CK 均不显著;N 添加显著的抑制了 N_{min}($P<0.05$),N、NP 主要通过抑制 $R_{铵}$ 使土壤 N_{min} 较 CK 分别降低了 18% 和 8%,其中,NP 较 CK 使 N_{min} 减小达到显著水平($P<0.05$)(图 1)。

2.3 氮磷添加对土壤酶动力学的影响

土壤 βG 和 NAG 的活性与底物浓度的拟合均遵循米氏方程(图 2)。N 添加使 βG 的酶动力学参数 V_{max}、K_m 较 CK(66nmol h^{-1} g^{-1}、53μmol/L)增加了 36%、13%($P<0.05$),但对酶的 V_{max}/K_m 影响不明显($P>0.05$)。P 输入(P、NP)降低了 NAG 的 V_{max}、K_m,比 CK 降低了 26%—60%($P<0.05$)。NP 同时添加使 βG 和 NAG 的 V_{max}/K_m 值分别较 CK 增加了 61%、89%($P<0.05$)(表 2)。βG 和 NAG 的动力学参数 V_{max} 与 K_m 之间均显著正

相关(P<0.05)(图 3)。

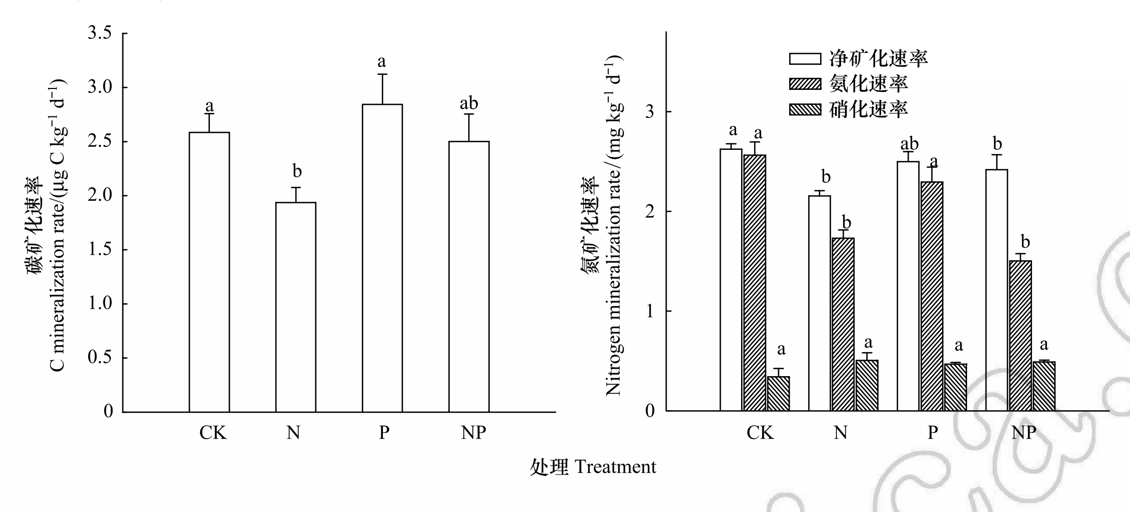


图 1　氮磷添加对土壤碳氮矿化速率的影响

Fig.1　The effects of nitrogen and phosphorus additions on the rates of soil carbon and nitrogen mineralization

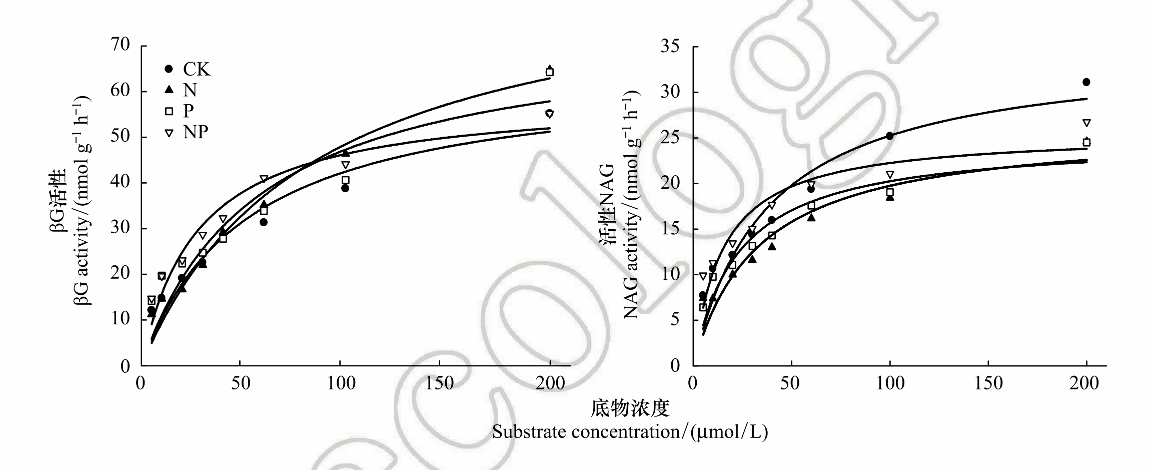


图 2　氮磷添加条件下 β-1,4-葡萄糖苷酶(βG)和 β-1,4-N-乙酰葡糖氨糖苷酶(NAG)米氏方程拟合结果

Fig.2　Michaelis-Menten equation of β-glucosidase (βG) and N-acetyl-glucosaminidase (NAG) under N and P additions

表 2　氮磷添加对 βG、NAG 酶动力学参数的影响

Table 2　The effects of N and P additions on the Kinetics parameters of βG and NAG

处理 Treatment	V_{max}/(nmol h^{-1} g^{-1})		K_m/(μmol/L)		V_{max}/ K_m/h^{-1}	
	βG	NAG	βG	NAG	βG	NAG
CK	66±11b	34±0a	53±12b	38±3a	1.3±0.13b	0.9±0.06b
N	89±3a	27±2b	85±7a	38±1a	1.0±0.05b	0.8±0.15b
P	74±4ab	25±1b	58±8b	24±3b	1.3±0.09b	1.1±0.09b
NP	59±4b	25±1b	27±2c	15±1b	2.1±0.17a	1.7±0.13a

每列不同小写字母表示不同处理间差异显著(P<0.05,n =3),数据表示平均值±标准误差; V_{max}:最大酶促反应速率,Maximum rate of enzyme reaction; K_m:半饱和常数,Michalis constant;V_{max}/ K_m:酶促反应效率,The efficiency of enzyme reaction;βG:β-1,4-葡萄糖苷酶,β-glucosidase;NAG:β-1,4-N-乙酰葡糖氨糖苷酶,N-acetyl-glucosaminidase

2.4　主成分分析

第一主成分(PCA1)与第二主成分(PCA2)分别解释 C_{min}、土壤 βG、NAG 动力学参数和土壤性质变量总方差的 38.7%和 18.9%。PC1 轴主要表现 aP、TP、N_{min}、K_a(βG)、K_a(NAG)、NO_3^--N、NH_4^+-N、βGK_m、βGV_{max}、SOC 的变化,PC2 轴主要表现 pH、N_{min}、C_{min}、DOC 及 TN 的变化(图 4b)。不同处理 PC1 和 PC2 上差异明显,

其中在 PC1 轴上为 NP>P>CK>N,在 PC2 轴上为 CK>P>NP≈N (图 4a)。

2.5 相关分析

土壤 C_{min}、N_{min} 与土壤理化性质相关分析表明,C_{min} 与 DOC 正相关,N_{min} 和 $R_{铵}$ 与 pH 均显著正相关,与 NH_4^+-N、NO_3^--N 显著负相关,$R_{硝}$ 与 TP 和 aP 显著正相关($P<0.05$)(表 3)。

土壤 βG、NAG 动力学参数与土壤理化性质相关分析表明,βG 的 V_{max}、K_m 与 NH_4^+-N、NO_3^--N 正相关($P<0.05$),其 V_{max}/K_m 与 NH_4^+-N 负相关($P<0.05$),与 TP、aP 正相关($P<0.05$);土壤 NAG 的 V_{max} 与 aP 负相关($P<0.05$),K_m 与 SOC、TN、TP、aP 负相关($P<0.05$),与 NH_4^+-N、NO_3^--N 正相关($P<0.05$),土壤 NAG 的 V_{max}/K_m 与 NH_4^+-N、NO_3^--N 负相关($P<0.05$),与 SOC、aP 正相关($P<0.05$)(表 4)。

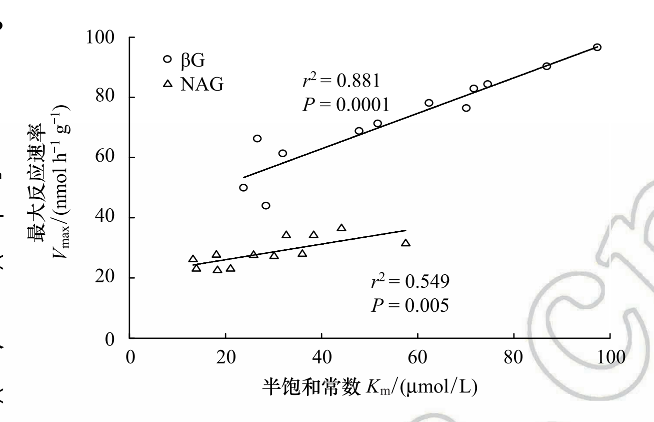


图 3 土壤 β-1,4-葡萄糖苷酶(βG)和 β-1,4-N-乙酰葡糖氨糖苷酶(NAG)动力学参数 V_{max}、K_m 的相关性分析

Fig.3 Relationships between the kinetics parameters (V_{max} and K_m) of β-glucosidase (βG) and N-acetyl-glucosaminidase (NAG)

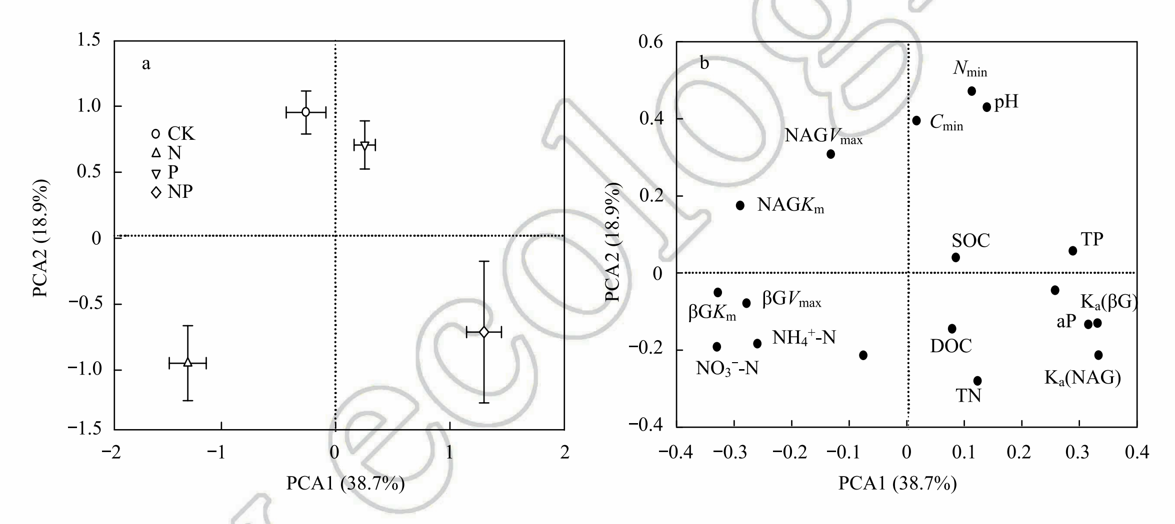


图 4 土壤碳氮矿化速率、土壤 βG、NAG 动力学参数和土壤环境因子主成分分析

Fig.4 Principal component analysis of the soil carbon and nitrogen mineralization rates, βG and NAG kinetic parameters and soil environment factors

(a)不同处理得分,(a) score of different treatment;(b)土壤 C_{min}、土壤 N_{min}、土壤 βG、NAG 动力学参数和环境因子载荷值,(b) loading values of individual soil carbon and nitrogen mineralization rate, βG kinetics and soil environmental factors;βGV_{max}:βG 酶促反应最大速率, Maximum rate of β-glucosidase;βGK_m:βG 米氏常数, Michalis constant of β-glucosidase; NAG V_{max}:NAG 酶促反应最大速率, Maximum rate of N-acetyl-glucosaminidase;NAGK_m:NAG 米氏常数, Michalis constant of N-acetyl-glucosaminidase;K$_a$(βG): 土壤 βG 的催化效率 V_{max}/K_m, efficient reaction of N-acetyl-glucosaminidase; K$_a$(NAG): 土壤 NAG 的催化效率 V_{max}/K_m,The efficient reaction of N-acetyl-glucosaminidase

表 3 碳氮矿化速率与土壤环境因子的相关性

Table 3 The correlations between carbon, nitrogen mineralization rates and the soil physiochemical properties

矿化 Mineralization	pH pH	有机碳 SOC	全氮 TN	全磷 TP	可溶性碳 DOC	铵态氮 NH_4^+-N	硝态氮 NO_3^--N	有效磷 aP
碳矿化速率 C_{min}	0.262	−0.239	0.138	0.047	0.551 *	−0.189	−0.01	−0.187
氮矿化速率 N_{min}	0.635 **	−0.372	0.153	0.367	0.215	−0.459 *	−0.581 *	0.204
氨化速率 $R_{氨}$	0.530 *	−0.616 *	−0.456	−0.161	−0.045	−0.329	−0.421	−0.187
硝化速率 $R_{硝}$	0.050	0.298	0.292	0.639 *	−0.105	0.166	−0.164	0.654 *

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, $n=20$; C_{min}:碳矿化速率,Carbon mineralization; N_{min}:氮矿化速率, Nitrogen mineralization; $R_{氨}$:氨化速率, Ammonification rate; $R_{硝}$:硝化速率,Nitrifying rate

表 4 βG、NAG 动力学参数与土壤环境因子的相关性

Table 4 The correlations between the kinetics parameters of βG, NAG and the soil physiochemical properties

因子 Factor	V_{max}/(nmol h^{-1} g^{-1})		K_m/(μmol/L)		V_{max}/K_m/h^{-1}	
	βG	NAG	βG	NAG	βG	NAG
pH	-0.300	0.099	-0.301	-0.069	-0.301	-0.079
有机碳 SOC	-0.022	-0.742*	-0.134	-0.718*	0.376	0.715*
全氮 TN	-0.414	-0.148	-0.275	-0.370*	0.280	0.543*
全磷 TP	-0.282	-0.500	-0.529*	-0.584*	0.606*	0.539*
可溶性碳 DOC	-0.144	0.058	-0.107	-0.072	0.168	0.221
铵态氮 NH_4^+-N	0.593*	0.047	0.668*	0.522*	-0.553*	-0.558*
硝态氮 NO_3^--N	0.523*	0.027	0.531*	0.579*	-0.407	-0.535*
有效磷 aP	-0.255	-0.642*	-0.479	-0.672*	0.596*	0.607*

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, $n=12$

3 讨论

3.1 氮磷添加对土壤碳、氮矿化速率的影响

C_{min}随着培养时间的延长而降低,与 Fang 等[26]的研究结果一致,这是由于培养后期土壤中易分解的糖类和蛋白质等物质减少,难分解的木质素、纤维素逐渐占主导地位,导致微生物对有机碳的利用效率降低[26]。本文表明 N 添加抑制土壤 C_{min},这与 Jussy 等[7]的结果一致。N 添加减少了杉木林中土壤微生物量及微生物群落的多样性[27],导致土壤 C_{min}降低。文中 P 添加对土壤 C_{min}没有明显影响,主要因为在 P 素限制的亚热带森林地区,外源 P 素输入主要被植物吸收[28],对与 C_{min}有关的微生物影响较小。

N 添加通过抑制 $R_{铵}$而抑制 N_{min}(图 2),这与 Holst 等[11]的研究结果一致。Turner 等[13]指出在氮饱和的生态系统中,外源 N 输入对 N_{min}有抑制作用。因为 N 素输入后导致土壤酸化,对土壤植物根系和微生物的生长造成危害[29],进而对 N_{min}有关酶造成影响,而本文结果也表明,N 添加抑制了与 N_{min}有关酶(NAG)的 V_{max}/K_m(表 4)。N_{min}又是受多种非生物因素影响的生物化学过程,土壤 pH 值的降低和 N 素有效性增加都会对 N_{min}产生抑制作用[30]。本文中 N 添加条件下的 N_{min}与 pH 呈显著的正相关,与 NH_4^+-N、NO_3^--N 呈显著的负相关,这可能与该地区 N 添加条件下杉木林土壤已达氮饱和有关。

3.2 氮磷添加对土壤水解酶动力学特征的影响

文中结果显示,N 添加增加了 βG 的 V_{max},这与 Stone 等[31]的结论一致。N 添加增加了土壤中氮素的有效性,导致碳素相对缺乏。根据微生物经济分配理论,此时微生物会产生更多与碳分解的酶,即增大碳水解酶的 V_{max}[31]。有研究结果表明 V_{max}、K_m是米氏方程中两个独立的变量[16],本文研究结果也表明,N 添加使 βG 的 V_{max}和 K_m同时增大(图 3),其原因可能是酶与有机物结合的有效位点受有机物有效性的限制,而输入的氮素会与土壤中的含碳化合物形成复杂的有机体[32],降低了 βG 与底物的亲和力,增加了土壤 βG 的 K_m[30]。本文结果表明,N 添加并未增加 βG 的 V_{max}/K_m(催化效率)(表 2),说明 N 添加条件下,土壤微生物不是通过提高酶的 V_{max}/K_m,而是通过提高酶的 V_{max}[31]来缓解由于 N 添加引起的碳限制。另外文中结果表明,N 添加条件下的 C_{min}与 βG 的 V_{max}成反比,这是因为 C_{min}、N_{min}大小不但受 V_{max}的影响,还与酶与底物的亲和力常数 K_m有关,C_{min}、N_{min}的大小 V_{max}/K_m决定[18]。

P 添加抑制了 NAG 的 V_{max}(表 2),这与 Wang 等[33]的研究结果一致,原因可能是在较高的 aP 条件下微生物减少了 NAG 数量的产生[33]。也有研究认为,aP 可以缓解微生物对 N 素的需求,从而降低了氮水解酶的活性[34]。P 添加对 βG 的 V_{max}无明显影响,这尽管与微生物经济分配理论不一致,但也和一些研究报道一致,例如 Turner 等[13]在亚热带的森林研究中发现持续 10 年的 P 添加对 βG 的 V_{max}无明显影响。然而,文中结果显示,NP 同时添加明显的增加 βG 和 NAG 的 V_{max}/K_m(表 2),这可能与 NP 同时添加降低了这两种酶的 K_m,增加

了酶与底物的亲和力有关(表 2)。

4 结论

(1)N 添加会抑制土壤 C_{min} 和 N_{min},P 添加对 C_{min} 无明显影响。N_{min} 与 pH 呈显著的正相关,与 NH_4^+-N、NO_3^--N 呈显著的负相关,结果表明,在亚热带杉木林红壤区 N 添加可能引起土壤氮饱和,增加土壤碳储存。(2)N 添加增加 βG 的 V_{max}、K_m,但对 V_{max}/K_m 影响不明显。P 添加降低了 NAG 的 V_{max}、K_m,NP 同时添加增加了 βG 和 NAG 的 V_{max}/K_m。

参考文献(References):

[1] Vitousek P M, Porder S, Houlton B Z, Chadwick O A. Terrestrial phosphorus limitation: mechanisms, implications, and nitrogen—phosphorus interactions. Ecological Applications, 2010, 20(1): 5-15.

[2] Lu X K, Mo J M, Gundersern P, Zhu W X, Zhou G Y, Li D J, Zhang X. Effect of simulated N deposition on soil exchangeable cations in three forest types of subtropical China. Pedosphere, 2009, 19(2): 189-198.

[3] Koyama A, Wallenstein M D, Simpson R T, Moore J C. Carbon-degrading enzyme activities stimulated by increased nutrient availability in Arctic tundra soils. PLoS One, 2013, 8(10): e77212.

[4] Tu L H, Hu T X, Zhang J, Li X W, Hu H L, Liu L, Xiao Y L. Nitrogen addition stimulates different components of soil respiration in a subtropical bamboo ecosystem. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 58: 255-264.

[5] Wang C H, Zhu F, Zhao X, Dong K H. The effects of N and P additions on microbial N transformations and biomass on saline-alkaline grassland of Loess Plateau of Northern China. Geoderma, 2014, 213: 419-425.

[6] Min K, Kang H, Lee D. Effects of ammonium and nitrate additions on carbon mineralization in wetland soils. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43(12): 2461-2469.

[7] Jussy J H, Colin-Belgrand M, Dambrine É, Ranger J, Zeller B, Bienaimé S. N deposition, N transformation and N leaching in acid forest soils. Biogeochemistry, 2004, 69(2): 241-262.

[8] Swanston C, Homann P S, Caldwell B A, Myrold D D, Ganio L S, Sollins P. Long-term effects of elevated nitrogen on forest soil organic matter stability. Biogeochemistry, 2004, 70(2): 229-252.

[9] 方熊, 刘菊秀, 张德强, 刘世忠, 褚国伟, 赵亮. 降水变化、氮添加对鼎湖山主要森林土壤有机碳矿化和土壤微生物碳的影响. 应用与环境生物学报, 2012, 18(4): 531-538.

[10] Vance C P, Uhde-Stone C, Allan D L. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. New Phytologist, 2003, 157(3): 423-447.

[11] Holst J, Liu C Y, Brüggemann N, Butterbach-Bahl K, Zheng X H, Wang Y S, Han S H, Yao Z S, Yue J, Han X G. Microbial N turnover and N-oxide (N_2O/NO/NO_2) fluxes in semi-arid grassland of Inner Mongolia. Ecosystems, 2007, 10(4): 623-634.

[12] German D P, Weintraub M N, Grandy A S, Lauber C L, Rinkes Z L, Allison S D. Optimization of hydrolytic and oxidative enzyme methods for ecosystem studies. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43(7): 1387-1397.

[13] Turner B L, Wright S J. The response of microbial biomass and hydrolytic enzymes to a decade of nitrogen, phosphorus, and potassium addition in a lowland tropical rain forest. Biogeochemistry, 2014, 117(1): 115-130.

[14] Sinsabaugh R L, Hill B H, Follstad Shah J J. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment. Nature, 2009, 462(7274): 795-798.

[15] Wang C Y, Han G M, Jia Y, Feng X G, Guo P, Tian X J. Response of litter decomposition and related soil enzyme activities to different forms of nitrogen fertilization in a subtropical forest. Ecological Research, 2011, 26(3): 505-513.

[16] Qian X, Gu J, Sun W, Li Y D, Fu Q X, Wang X J, Gao H. Changes in the soil nutrient levels, enzyme activities, microbial community function, and structure during apple orchard maturation. Applied Soil Ecology, 2014, 77: 18-25.

[17] Xu Z W, Yu G R, Zhang X Y, Ge J P, He N P, Wang Q F, Wang D. The variations in soil microbial communities, enzyme activities and their relationships with soil organic matter decomposition along the northern slope of Changbai Mountain. Applied Soil Ecology, 2015, 86: 19-29.

[18] 樊金娟, 李丹丹, 张心昱, 何念鹏, 部金凤, 王情, 孙晓敏, 温学发. 北方温带森林不同海拔梯度土壤碳矿化速率及酶动力学参数温度敏感性. 应用生态学报, 2016, 27(1): 17-24.

[19] 陈晓丽,王根绪,杨燕,杨阳. 山地森林表层土壤酶活性对短期增温及凋落物分解的响应. 生态学报,2015,35(21): 7071-7079.

[20] Yang B, Wen X F, Sun X M. Seasonal variations in depth of water uptake for a subtropical coniferous plantation subjected to drought in an East

Asian monsoon region. Agricultural and Forest Meteorology, 2015, 201: 218-228.

[21] 杨洋,王继富,张心昱,李丹丹,王辉民,陈伏生,孙晓敏,温学发.凋落物和林下植被对杉木林土壤碳氮水解酶活性的影响机制.生态学报, 2016, 36(24): 8102-8110.

[22] 马丽娜, 王喜明, 代万安, 潘剑玲, 陈晓鹏, 尚占环, 郭瑞英. 西藏高原日光温室菜地土壤碳、氮矿化特征研究. 中国生态农业学报, 2013, 21(11): 1340-1349.

[23] He N P, Wang R M, Gao Y, Dai J Z, Wen X F, Yu G R. Changes in the temperature sensitivity of SOM decomposition with grassland succession: implications for soil C sequestration. Ecology and Evolution, 2013, 3(15): 5045-5054.

[24] 张璐, 黄建辉, 白永飞, 韩兴国. 氮素添加对内蒙古羊草草原净氮矿化的影响. 植物生态学报, 2009, 33(3): 563-569.

[25] 中国生态系统研究网络科学委员会. 陆地生态系统土壤观测规范. 北京: 中国环境科学出版社, 2007.

[26] Fang H, Mo J M, Peng S L, Li Z A, Wang H. Cumulative effects of nitrogen additions on litter decomposition in three tropical forests in southern China. Plant and Soil, 2007, 297(1/2): 233-242.

[27] Dong W Y, Zhang X Y, Liu X Y, Fu X L, Chen F S, Wang H M, Sun X M, Wen X F. Responses of soil microbial communities and enzyme activities to nitrogen and phosphorus additions in Chinese fir plantations of subtropical China. Biogeosciences, 2015, 12(18): 5537-5546.

[28] Chen F L, Zheng H, Zhang K, Ouyang Z Y, Lan J, Li H L, Shi Q. Changes in soil microbial community structure and metabolic activity following conversion from native *Pinus massoniana* plantations to exotic *Eucalyptus plantations*. Forest Ecology and Management, 2013, 291: 65-72.

[29] Kadono A, Funakawa S, Kosaki T. Factors controlling mineralization of soil organic matter in the Eurasian steppe. Soil Biology Biochemistry, 2008, 40(4): 947-955.

[30] Liu X R, Dong Y S, Ren J Q, Li S G. Drivers of soil net nitrogen mineralization in the temperate grasslands in Inner Mongolia, China. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 2010, 87(1): 59-69.

[31] Stone M M, Weiss M S, Goodale C L, Adams M B, Fernandez I J, German D P, Allison S D. Temperature sensitivity of soil enzyme kinetics under N-fertilization in two temperate forests. Global Change Biology, 2012, 18(3): 1173-1184.

[32] 方运霆, 莫江明, Per G, 周国逸, 李德军. 森林土壤氮素转换及其对氮沉降的响应. 生态学报, 2004, 24(7): 1523-1531.

[33] Wang Q K, Wang S L, Liu Y X. Responses to N and P fertilization in a young *Eucalyptus dunnii* plantation: microbial properties, enzyme activities and dissolved organic matter. Applied Soil Ecology, 2008, 40(3): 484-490.

[34] Jing X, Yang X X, Ren F, Zhou H K, Zhu B, He J S. Neutral effect of nitrogen addition and negative effect of phosphorus addition on topsoil extracellular enzymatic activities in an alpine grassland ecosystem. Applied Soil Ecology, 2016, 107: 205-213.